Beiträge zur Kenntnis der Resorption durch die Haut

Inaugural-Dissertation

der Medizinischen Fakultät der Universität Bern

zur Erlangung der Würde eines Dr. pharm.

vorgelegt

von

Elias Haffter, pharm.

aus **Weinfelden** (Thurgau).

1941

Neuenschwander'sche Verlagsbuchhandlung AG. in Weinfelden

Beiträge zur Kenntnis der Resorption durch die Haut

Inaugural-Dissertation

der Medizinischen Fakultät der Universität Bern

zur Erlangung der Würde eines Dr. pharm.

vorgelegt

von

Elias Haffter, pharm.

aus **Weinfelden** (Thurgau).

1941

Neuenschwander'sche Verlagsbuchhandlung AG. in Weinfelden

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. Emil Bürgi von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 25. November 1940.

Der Dekan der medizinischen Fakultät:
Bluntschli.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Neuenschwandersche Buchdruckerei und Verlagsbuchhandlung AG. in Weinfelden.

Meinen lieben Eltern gewidmet

Einleitung.

Die Permeabilität der Haut für Gifte, Arzneien und andere Stoffe ist von toxikologischer, pharmakologischer aber auch von physiologischer Bedeutung. In einer ganzen Reihe von Gewerben sind die Arbeiter der Wirkung von Giften ausgesetzt, die von beschmutzten Händen in den Verdauungstraktus und mit der Atmungsluft durch die Lungen, aber auch direkt durch die Haut hindurch in das Blut gelangen können. Viele Arzneistoffe werden auf die Haut appliziert, teils um sie selbst zu beeinflussen, teils aber auch in der Absicht, sie resorbieren und vom Blute aus wirken zu lassen. Wir brauchen hier nur auf die Salicylsäure und auf das Jodkalium aufmerksam zu machen.

Wenn man nun auch im allgemeinen sagen darf, daß die Haut nur eine verhältnismäßige kleine Menge von Stoffen durchtreten läßt, also unzweifelhaft eine natürliche Schutzhülle für den Organismus darstellt, so kann man sich andererseits doch der Tatsache nicht mehr verschließen, daß eine große Zahl von gasförmigen, von flüssigen oder in irgendeiner Lösung auf die Haut gebrachten Stoffen diese Hülle durchdringt.

Während man in früheren Zeiten ohne irgendwelche Untersuchungen als Grundlage zu haben, annahm, daß Vergiftungen von der Haut aus außerordentlich leicht stattfinden könnten, suchte man sich im Laufe des 19. Jahrhunderts genauere Kenntnisse zu erwerben, und es wurde auf diesem Gebiete recht viel experimentiert. Solche Untersuchungen, die sowohl am Men-

schen wie am Tier ausgeführt wurden, beachteten aber vor allem die Frage der Inhalationsmöglichkeit von auf die Haut gebrachten Substanzen zu wenig. Viele der in Betracht fallenden Gifte oder Arzneien waren mehr oder weniger flüchtiger Natur und konnten dementsprechend eingeatmet werden, ja man muß gegenwärtig sogar annehmen, daß bei Verwendung solcher Körper der Einatmungsweg von quantitativ größerer Bedeutung ist als die Hautpassage.

Man darf daher wohl sagen, daß brauchbare Resultate auf dem Gebiete der Hautpermeabilität erst erreicht wurden, als man eine Methode zur Hand hatte, die ein Einatmen von cutan applizierten Stoffen mit Sicherheit vermeiden ließ. Die Schwierigkeit, die Inhalation von Substanzen bei Experimenten über die Hautpermeabilität zu vermeiden, bildete auch den Hauptgrund für den oft recht krassen Widerspruch in den früher erhaltenen Ergebnissen. Bei nicht flüchtigen Substanzen ist es freilich möglich, die von der Haut aus stattgefundene Resorption durch den Nachweis der verwendeten Substanzen im Blute und im Urin zu erbringen. Doch gestatten solche Untersuchungen keinen ausreichend genauen Schluß auf die Quantität des Resorbierten, da ein Teil der von der Haut aus aufgenommenen Stoffe irgendwo im Körper zurückgehalten werden kann und nur langsam zur Ausscheidung gelangt. Außerdem kann ein solcher Nachweis (im Blute oder im Urin) nur für mehr oder weniger körperfremde Substanzen geliefert werden. Wir denken da vor allem an die Kohlensäure, die im Organismus teils physikalisch gelöst, teils in lockerer oder festerer Verbindung immer vorhanden ist und je nach Bedarf von der einen in die andere Form übergeführt oder als Kohlensäure durch die Lungen und als kohlensaures Alkali durch den Urin ausgeschieden wird. Es ist dieser Verhältnisse wegen gänzlich ausgeschlossen, die Frage

der Resorptionsfähigkeit der Kohlensäure anhand von Bestimmungen im Blute, im Urin oder in der Atmungsluft zu beantworten. Gerade diese Frage aber wäre vor allem für balneologische Probleme von Wichtigkeit. Man kann daher schon sagen, daß das Problem der Hautpermeabilität von Arzneien und Giften sowie von physiologisch bedeutsamen Gasen wie Kohlensäure und Sauerstoff die Medizin zwar schon seit langer Zeit beschäftigte, daß man aber erst in den letzten Jahren eine exakte und daher glückliche Lösung gefunden hat, und zwar vor allem durch eine einfache Apparatur, auf deren Zweckmäßigkeit wir später zu sprechen kommen werden.

Allgemeiner Teil.

Schon anfangs und Mitte des letzten Jahrhunderts machten einzelne Mediziner und Naturwissenschafter Versuche über die Hautresorption von einigen Stoffen. Zum Teil brachten sie diese in Salben zur Anwendung, zum Teil gelöst als Bäder oder Pinselungen.

Die Ergebnisse dieser Versuche waren sehr widerspruchsvoll, einmal weil die Versuchsbedingungen zu ungleich waren, dann wohl auch, weil eine einheitliche Auffassung über die bei der Resorption wirkenden physiologischen Vorgänge fehlte. Hier mußte das Problem zuerst angepackt werden. Die erste Frage, die sich gestellt hat, war wohl die, wie ein Stoff überhaupt in die lebende Zelle eindringen könne. Um in den Körper gelangen zu können, müssen auf alle Fälle Zellen durchdrungen werden.

In erster Linie wären hier die Publikationen von Overton (1) zu erwähnen.

Anfänglich machte er Plasmolyse-Versuche an Pflanzenzellen und schloß, daß, wenn die Loslösung des Protoplasmas von der Zellwand trotz höherem osmotischem Druck der umgebenden Flüssigkeit nicht stattfindet, so ein Teil des im Wasser gelösten Stoffes durch die Zellwand diffundiert sein müsse.

Später machte er ähnliche Versuche an Tierzellen, und zwar an Froschmuskeln (2).

Zusammenfassend stellte er dann unter anderem folgende Tatsachen fest:

1. Nicht die Zellwand, sondern die Grenzschichten des Protoplasmas sind für die Permeabilität verantwortlich.

2. In den meisten Fällen zeigen Tierzellen dieselben Eigenschaften wie Pflanzenzellen.

3. Overton wies darauf hin, daß die Osmose allein die Permeabilität der Zellen für verschiedene Stoffe nicht erklären kann. Es hat keinen Zweck, seine Angaben hier zu wiederholen, da sie nach mancher Richtung hin von der modernen Medizin vollkommen überholt worden sind. Man darf hier überhaupt nicht von Osmose reden, die ja eigentlich nur bei semipermeablen, also nur für Wasser durchgängige Membranen in Betracht fällt, sondern von Diffusion und Dialyse, denn das Wesentliche, was wir hier zu besprechen haben, bezieht sich ja nicht auf das Wasser, sondern auf alle möglichen anderen anorganischen und organischen Stoffe.

4. Verbindungen, die in Aether und fetten Oelen leicht löslich sind, dringen schnell in die Zelle ein, solche, die nicht fettlöslich sind, nicht oder sehr langsam.

Die Zellen sind wahrscheinlich von einem nicht oder schwer verseifbaren Fett (Cholesterin oder einem Ester desselben) umgeben.

5. Je geringer die Löslichkeit einer Verbindung in Aether, Olivenöl etc. im Verhältnis zu ihrer Löslichkeit in Wasser ist, desto langsamer tritt diese Verbindung in die Zelle ein.

Die Diffusionsgeschwindigkeit ist also abhängig vom sogenannten Overton'schen Teilungsquotienten:

$$\frac{\text{Löslichkeit in Lipoiden}}{\text{Löslichkeit in Wasser.}}$$

Diese Overton'schen Ansichten haben bekanntlich zu einer besonderen Theorie der Narkose geführt, und von da ausgehend versuchte man eine Zeitlang die Lipoidlöslichkeit als die notwendige Voraussetzung für die Wirksamkeit einer jeden Substanz anzusehen, da man annahm, sie könne, ohne lipoidlöslich zu sein, nirgends in eine Zelle eindringen. Diese Ansichten sind nicht mehr zu halten und ebensowenig die vorher erwähnte Auffassung Overtons, daß eine jede Zelle von einer Lipoidschicht umgeben sei.

W. Filehne (3) beschäftigte sich bereits mit der Permeabilität der menschlichen Epidermis. Er betrachtet diese als eine Diffusionsmembran, durchtränkt mit Cholesterinfetten und mit gewöhnlichem Fett, dem Hauttalg überzogen. Also müssen Stoffe in Fett löslich sein, um die Haut durchdringen zu können. Filehne und sein Schüler Mahn (4) prüften nun die Löslichkeit verschiedener Stoffe in Lanolin und Olivenöl und nahmen an, daß sie, wenn sie löslich sind, auch durch die Haut hindurch gehen, denn qualitative Unterschiede sollten ihrer Ansicht nach nicht vorhanden sein.

Eine große Arbeit über das Resorptionsvermögen der Haut hat dann Schwenkenbecher (5) herausgegeben.

Aufbauend auf den Versuchen Overton's am Frosch, für den der Teilungsquotient der Löslichkeit einer Substanz zwischen Wasser und Lipoid als charakteristisch für die Durchgängigkeit sein will, machte er Versuche mit weißen Mäusen. Er beobachtete diese Tiere, während sie in eine wässerige Lösung der zu prüfenden Substanz hineingehängt wurden. Diese Methode eignet sich hauptsächlich für Stoffe mit starker, physiologischer Wirkung. Schwenkenbecher prüft denn auch auf diese Weise hauptsächlich die Wirkung organischer Substanzen, z. B. Alkohole, Ester, Aether und andere Stoffe, die eine Narkose erzeugen, dann auch einige Alkaloide.

In einer anderen Versuchsreihe wurde der Nachweis der Resorption durch den chemischen Nachweis der verwendeten Substanz im Harn der Mäuse geleistet. Die Harnröhre wurde vor dem Versuch verschlossen und dann nach dem Versuch bei getötetem Tier der Blaseninhalt untersucht. Auch so erhielt Schwenkenbecher brauchbare Ergebnisse mit leicht nachweisbaren organischen und zum Teil auch anorganischen Stoffen.

Schwenkenbecher bestätigte die Bedeutung des Overton'schen Teilungskoeffizienten. Eine Ausnahme bildete die Permeabilität von Kaliumjodid, das nicht öllöslich ist. Er nahm aber an, es gehe nur das Jodion hindurch. Auf diese Frage werde ich später noch eingehen. Seitdem sind namentlich viele einzelne

Stoffe auf ihre Hautpermeabilität näher untersucht worden. Ich möchte vor allem die Arbeiten von Moncorps (6) erwähnen. Er untersuchte die perkutane Resorption von Salicylsäure, Schwefel, weißem Präzipitat, Teerbestandteilen und hat auch den Einfluß der Salbengrundlagen in Betracht gezogen.

Perutz (7) hat ältere und neuere Arbeiten im «Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten» verarbeitet und sagt dort über die Resorption durch die Haut unter anderem folgendes:

1. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist abhängig von der Molekulargröße des diffundierenden Stoffes. Sie ist um so größer, je kleiner das Molekül ist.

2. Die Diffusionsgeschwindigkeit ist abhängig vom Verhältnis zwischen Lipoidlöslichkeit und Wasserlöslichkeit eines Stoffes. Diese Abhängigkeit wurde bereits von Overton erkannt.

3. Um die Haut durchdringen zu können, muß ein Stoff in Lipoiden und auch ein wenig in Wasser löslich sein.

In dieser Regel scheint es aber Ausnahmen zu geben, da verschiedene anorganische und organische Salze resorbiert werden, obwohl sie lipoidunlöslich sind. Auch können Stoffe, welche die Haut reizen oder schädigen, entgegen den Regeln, die für die normale Haut gelten, permeabel sein. Sie können auch bei dieser Gelegenheit den Weg für andere, an sich nicht durchgehende Stoffe bahnen. Dies ist z. B. der Fall bei ätherischen Oelen, Phenolen und anderen sogenannten Keratolyten. Es sind dies Substanzen, welche die Hornschicht der Epidermis lösen oder auflockern.

Ueber den Weg, den die zur Resorption gelangenden Stoffe nehmen, um die Haut zu durchdringen, ist zu sagen, daß die Hauptrolle wohl die Diffusion durch die äußere Epidermisschicht spielt. Als Vermittler sind in vielen Fällen die Talgdrüsen und Haarbälge (Moncorps) anzusehen. Nur fettlösliche und überhaupt unlösliche Stoffe werden so permeabel. Wasserlösliche Stoffe können wahrscheinlich erst nach Emulgierung

durch zugesetzte oder in der Haut vorhandene Emulgatoren zur Wirkung gelangen. (Nach v. Czetsch und Schmidt — La Baume, die Salben, Verlag Springer 1939.)

Eine große Zahl von Arbeiten muß bei diesen Betrachtungen ausgeschaltet werden, da sie mit durchaus unbrauchbaren Methoden angestellt worden sind. Vor allem wurde viel zu wenig beachtet, daß eine große Zahl der auf ihre Durchlässigkeit durch die Haut geprüften Stoffe flüchtiger Natur waren und daher auch eingeatmet werden konnten. Ein typisches Beispiel hierfür bildet die in der Literatur vorhandene außerordentlich langatmige Polemik über die Frage, ob das Quecksilber, wenn es in Form von grauer Salbe auf die Haut aufgetragen wird, von dort aus direkt in das Blut gelangt oder eingeatmet wird, eine Frage, die erst durch die Arbeiten des Bürgi'schen Institutes mit Bestimmtheit beantwortet werden konnte. Eine wesentliche Förderung des ganzen Problems der Permeabilität geschah überhaupt durch die Arbeiten des genannten Institutes, da dort zum ersten Male systematisch ein Apparat zur Verwendung kam, der eine genaue Bestimmung der Permeabilität durch die Haut gestattete und jede Einatmung der untersuchten Substanzen ausschloß. Ich werde auf diese Apparatur später zu sprechen kommen, möchte hier aber nur bemerken, daß es sich um einen Rezipienten handelt, der luftdicht auf die Haut aufgeklebt werden kann, und dessen Inhalt man vor und nach der Applikation chemisch genau zu bestimmen in der Lage ist. Ich habe vornehmlich mit dieser Vorrichtung gearbeitet und lasse zunächst meine eigenen Untersuchungen über die Resorption einiger Stoffe folgen. Ich beschäftigte mich mit:

1. Kohlensäure.
2. Kaliumjodid.
3. Insulin.
4. Vitamin B_1.

Spezieller Teil.

Die Resorption von Kohlensäure durch die Haut.

Ueber die Frage der Resorption von Kohlensäure durch die Haut ist besonders mit Bezug auf die Kohlensäurebäder schon viel geschrieben worden. Die wichtigsten Veröffentlichungen finden wir bei Schmid (8) und Lehmann (9) angegeben.

Schon Schwenkenbecher (5) hat bei seinen Versuchen auch CO_2 verwendet und dazu eine tracheotomierte Taube in ein Bad mit CO_2-Wasser gebracht. Er konstatierte dabei eine allerdings sehr geringe Zunahme der CO_2-Ausscheidung durch die Atemluft. Winternitz (10) machte Versuche an Menschen in CO_2-Bädern. Er maß ihren Gasstoffwechsel und fand ebenfalls eine geringe Erhöhung der CO_2-Abgabe. Liejstrand und Magnus (11) lehnen die CO_2-Resorption überhaupt ab.

Groedel und Wächter (12) konstatierten eine Erhöhung des respiratorischen Quotienten $\left(\frac{CO_2}{O_2}\right)$ im CO_2-Bade. Groedel selber (13) fand aber später diese Zunahme nicht beweisend. Er sagt, der Anstieg der CO_2-Ausatmung im CO_2-Bade lasse sich auch durch Verhinderung der Abgabe durch die Haut (bei der perspiratio insensibilis) erklären. Diese betrage zirka 1% der Ausscheidung durch die Lunge. Außerdem sollen auch psychische Einflüsse (Frostgefühl) eine Veränderung des Gasstoffwechsels bedingen. Salzmann (14) wollte die Frage abklären, indem er gasförmiges Kohlenmonoxyd (Leuchtgas) auf die Haut von Ferkeln einwirken ließ und dann das Blut mit dem Spektroskop

auf CO untersuchte. Da er keines fand, behauptete er, Kohlensäure sei ebenfalls unpassierbar. Hierbei ist zu bemerken, daß CO schlecht in Wasser und Lipoiden löslich ist.

Auf eine andere Art haben Hediger (15) und Bürgi (16) das Problem angepackt. Aus der Abnahme des CO_2-Gehaltes von in abgeschlossenen Gefäßen auf die Haut gebrachten CO_2-Lösungen schlossen sie auf die Resorption. Schmid (8) und Lehmann (9) haben dann unter Bürgi's Leitung diese Versuche ausgebaut und festgestellt, daß die Resorption bei steigender CO_2-Konzentration zunimmt, bei steigender Salzkonzentration aber abnimmt.

A. Resorption von Kohlensäure aus wässerigen Lösungen durch die menschliche Haut.

Versuche bei leerem und bei gefülltem Magen.

Ich habe nun zunächst nachgeprüft, ob die Aufnahme von Nahrung einen Unterschied in der CO_2-Aufnahme durch die Haut bewirkt.

Die Versuche machte ich alle an mir selber nach der von Bürgi (16) beschriebenen Methode. Man verwendet dabei ein halbkugelförmiges Glasgefäß, das unten einen nach außen gebogenen flachen Rand von ca. 1,5 cm Breite, oben 2 Ansatzröhrchen mit Glashahnen hat. Dieses wird mit einer Mischung von Vaseline und Bienenwachs auf die Haut abgedichtet und mit einer Binde befestigt. (Je nach Temperatur benutzte ich ein Wachsgemisch vom Schmelzpunkt ca. 32°, ca. 35° oder ca. 38°.)

Versuchsanordnung:

Das Gefäß wird unter Oeffnen beider Glashahnen durch das eine Rohr mit Kohlensäurewasser von bekanntem CO_2-Gehalt gefüllt und hierauf beide Hahnen geschlossen. Man wartet nun

eine bestimmte Zeit, entnimmt dann dem Glasgefäß ein bestimmtes Quantum CO_2-Lösung und bestimmt darin den jetzigen CO_2-Gehalt. Aus der Differenz der Konzentrationen und der Größe des Glasgefäßes läßt sich die resorbierte Menge CO_2 errechnen.

Bei der ersten Titration, beim Füllen und bei der Entnahme nach dem Versuch müssen die nötigen Vorsichtsmaßregeln getroffen werden, damit der CO_2-Gehalt nicht durch Unterdruck oder Schütteln sinken kann. Das Füllen der Pipetten und des Glasgefäßes geschieht daher durch langsames Aufsteigenlassen vermittels Druckluft (Gummiballon). Die Kohlensäurelösungen werden durch Einleiten von CO_2 aus einer Stahlbombe in einen mit Wasser gefüllten Erlenmeyer hergestellt.

Die Kohlensäurebestimmung wird so ausgeführt, daß man die Lösung in eine bestimmte Menge Barytwasser einfließen läßt. Der Ueberschuß wird dann mit Salzsäure unter Verwendung von Phenolphtalein zurücktitriert. Ich verwendete wie Schmid (9) eine Salzsäure n/500 und eine Barytlauge, von der 3 cm^3 ca. 10 cm^3 der Salzsäure neutralisierten.

Das von mir verwendete Ansatzgefäß hatte einen Inhalt von ca. 30 cm^3. Die mit der Haut in Berührung kommende Fläche betrug ca. 10 cm^2. Je nach dem Druck der Binde, mit der das Gefäß befestigt ist, schwanken diese Daten ein wenig.

Da die Versuche Schmids und Lehmanns ergeben haben, daß zwischen der Resorption durch die Bauchhaut oder die Haut an der Volarfläche des Vorderarmes kein Unterschied besteht, machte ich meine Versuche ausschießlich am Arm.

Einen Teil der Versuche machte ich nun in nüchternem Zustande, d. h. ich nahm kein Frühstück zu mir und machte einen Versuch. Hierauf machte ich nach kräftigem Mittagessen wieder einen Versuch am Nachmittag.

Die Dauer der CO_2-Einwirkung war jeweils eine Stunde.

Wenn ich je zehn gut gelungene Versuche zusammenstelle, so erhalte ich folgende Tabellen:

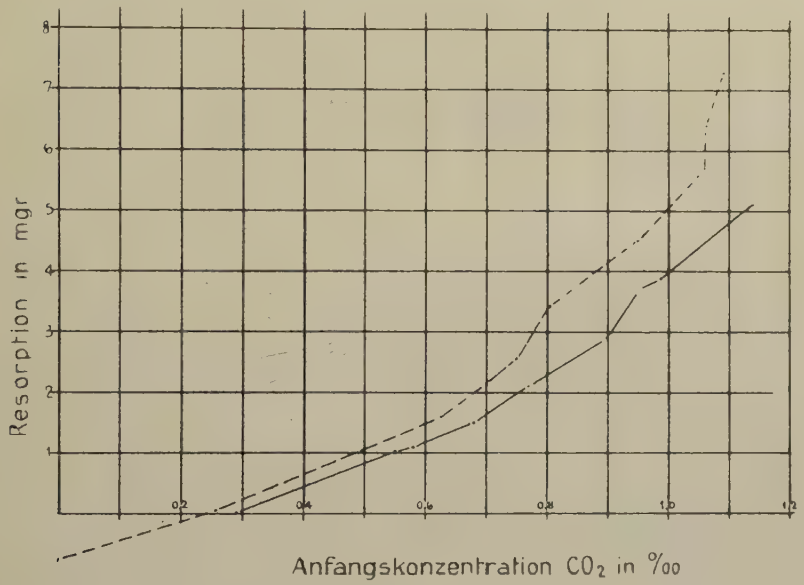
Bei leerem Magen.

No.	Anfangs-konzentration ‰	Schluß-konzentration ‰	Resorption		
			‰	mgr.	mgr. pro cm² Hautfläche
1	1,054	0,864	0,190	5,7	0,57
2	1,091	0,848	0,243	7,3	0,73
3	1,051	0,836	0,215	6,4	0,64
4	0,805	0,693	0,112	3,4	0,34
5	0,629	0,576	0,053	1,6	0,16
6	0,942	0,791	0,151	4,5	0,45
7	0	0,025	0,025(+)	0,75(+)	0,075(+)
8	0,752	0,669	0,085	2,6	0,26
9	0,561	0,513	0,048	1,5	0,15
10	0,263	0,271	0,008	0,25	0,025

Bei gefülltem Magen.

No.	Anfangs-konzentration ‰	Schluß-konzentration ‰	Resorption		
			‰	mgr.	mgr. pro cm² Hautfläche
11	0,996	0,867	0,129	3,9	0,39
12	0,766	0,695	0,071	2,1	0,21
13	0,955	0,833	0,122	3,7	0,37
14	1,137	0,970	0,167	5,1	0,51
15	0,913	0,834	0,079	2,4	0,24
16	0,552	0,517	0,035	1,05	0,11
17	0,902	0,806	0,096	2,9	0,29
18	0,293	0,295	0	0	0
19	0,585	0,548	0,037	1,1	0,11
20	0,682	0,633	0,049	1,5	0,15

Stellt man diese zwei Tabellen als Kurven in einer Ebene dar, so erhält man folgendes Bild:



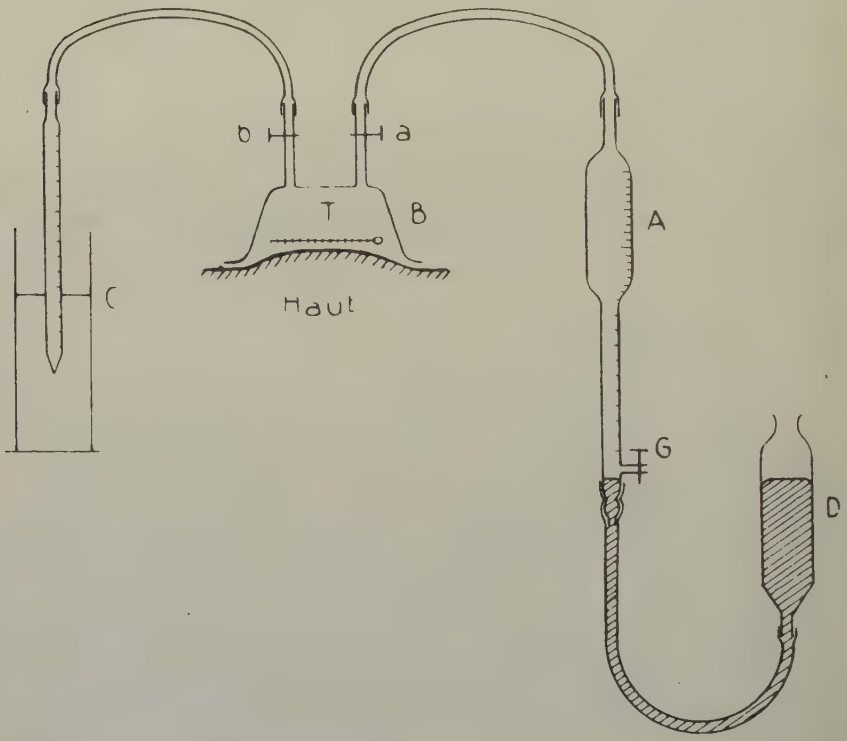
Leerer Magen - - - - - -
Voller Magen ————

Nach dem Essen resorbiert die Haut also etwas weniger als bei leerem Magen.

Auch die Steigerung der Resorption bei zunehmender Konzentration kommt in dieser Kurvendarstellung sehr schön zum Ausdruck. Am wenigsten Verlaß ist auf das Anfangsstück, wo bei niederer Konzentration die Resorption negativ ist. Dort tritt aus der Haut CO_2 ins Wasser über. Die Werte sind sehr gering und deshalb auch ungenau.

B. Resorption von gasförmigem Kohlendioxyd.

Obschon die Aufnahme von gasförmigem Kohlendioxyd durch die Haut praktisch weniger Bedeutung hat, als die des in H_2O gelösten, untersuchte ich sie doch. Zu diesem Zwecke mußte aber ein besonderer Apparat konstruiert werden, mit dem sich diese Messungen ausführen ließen. Dies ist mir nach einigen Fehlschlägen auch gelungen.



A ist ein Glasgefäß, oben und unten offen, unten mit einem seitlichen Ansatzrohr mit Glashahn G. Es ist eingeteilt im rohrförmigen Teil in $^1/_{10}$ ccm, im obern, erweiterten Teil in ccm.

B ist ein ähnliches Glasgefäß, wie es zu den Versuchen mit gelöstem CO_2 verwendet wurde, nur ein wenig größer. In der Mitte ist ein spiralförmiges Thermometer T eingebaut.

C ist ein mit Wasser halb gefüllter Meßzylinder, darin ist eine graduierte Pipette. Das Ganze dient als Eudiometer.

D ist ein Ausgleichsgefäß für Quecksilber.

Als Versuchstiere verwendete ich Kaninchen.

Das Glasgefäß wurde mit erwärmter Gelatinelösung, die beim Erkalten erhärtete, auf die Bauchhaut aufgedichtet. Durch Versuche mit einer Glasplatte an Stelle der Haut wurde die Gasdichtigkeit ausprobiert.

Als Absperrflüssigkeit eignete sich nur Quecksilber. Alle anderen ausprobierten Flüssigkeiten nahmen CO_2 auf.

Das verwendete Glasgefäß hatte einen Inhalt von ca. 90 ccm. Die mit dem Gas in Berührung kommende Hautfläche betrug ca. 35 cm^2.

Methode:

Ein Kaninchen wird mit dem Bauch nach oben auf ein eigens dafür konstruiertes Brett angebunden. Auf einer kreisförmigen Fläche, die etwas größer ist als die Glasglocke B, werden die Haare so kurz als möglich geschoren. Hierauf wird die Glasglocke mit warmer Gelatinelösung angeklebt und festgebunden. Man wartet ca. ¼ Stunde bis die Gelatine erhärtet ist. Nun läßt man durch Senken des Ausgleichsgefäßes D das Quecksilber bis knapp unter das Ansatzrohr G sinken und schließt dort eine Kohlensäureflasche oder einen Kippapparat an. Beide Hahnen der Glasglocke B sind geöffnet. Das Eudiometer C ist nicht angeschlossen. Man läßt nun ca. 5' lang einen CO_2-Strom durch den Apparat streichen, um die Luft zu

vertreiben. Hierauf stellt man das CO_2 ab und schließt Hahn G. Dann läßt man das Quecksilber bis in die Skala der Röhre A steigen, schließt Hahn b des Gefäßes B und notiert die Temperatur des Thermometers T und den Stand des Quecksilbers.

Nun läßt man das Kohlendioxyd eine bestimmte Zeit einwirken. Von Zeit zu Zeit sorgt man durch Einstellung der beiden Quecksilberspiegel auf gleiche Höhe dafür, daß der Druck normal bleibt.

Am Ende der Versuchsdauer kühlt man das Glasgefäß B durch Auflegen von Eisstücken so stark ab, daß das Thermometer die am Anfang abgelesene Temperatur zeigt. Nun gleicht man die Quecksilberspiegel möglichst aus und liest ab. Dann schließt man das Eudiometer C am Hahn b an, gleicht das Wasserniveau durch senkrechtes Verschieben der Pipette aus und liest auf dieser ab.

Nun öffnet man Hahn b, gleicht wieder die Niveaux aus und liest ab. Je nachdem, ob das Wasser in der Pipette gestiegen oder gefallen ist, muß man den dort gefundenen Wert vom Volumen, das man im Meßgefäß A abgelesen hat, abziehen oder dazuzählen und findet so die Anzahl ccm CO_2, die u. U. bei der Temperatur T in der Versuchszeit durch die Haut resorbiert wurden.

Das Eudiometer mit Wasser gibt eine genauere Ablesung, weil beim Quecksilber schon eine Niveaudifferenz vom Bruchteil eines Millimeters einen beträchtlichen Druckunterschied ausmacht.

Diese Methode hat ziemlich große Fehlerquellen. Einmal macht eine kleine Differenz der Temperatur, die sich nicht vermeiden läßt, schon erhebliche Fehler beim Volumen von Gasen. Dann ist es auch unmöglich, den Druck durch Ausgleich der Quecksilberniveaux immer konstant zu halten.

Resorption von gasförmigem Kohlendioxyd.

Dauer Minuten		Ablesungs-temperatur	Resorption			
			V_t cm³	V_0 cm³	mgr.	mgr. pro cm² Haut
60	1	22°	8,8	7,3	14,5	0,36
	2	22°	11,4	9,5	19	0,47
	3	25°	6,8	5,7	11,5	0,29
90	1	26°	12,5	10,4	21	0,52
	2	26°	14,2	11,8	23,5	0,59
	3	24°	13,2	11,0	22	0,55
120	1	23,5°	22,5	18,8	37,5	0,94
	2	26°	16,4	13,7	27,5	0,69

V_t = Volumen des bei der Ablesungstemperatur T. resorbierten CO_2.

V_0 = Volumen auf 0° und 760 mm Hg. reduziert.

Die Korrektur auf den Druck 760 mm wurde nicht genau ausgeführt. Die Versuchsfehler sind ohnehin größer. Mittlerer Druck 720 mm.

Wie man sieht, stimmen die erhaltenen Resultate nicht sehr schön überein. Viele Versuche, die ich noch gemacht hatte, sind dann auch durch Undichtwerden der Apparatur mißglückt.

Immerhin zeigte sich, daß beträchtliche Mengen gasförmiger CO_2 resorbiert werden.

Zusammenfassung.

1. Die menschliche Haut resorbiert bei leerem Magen etwas mehr Kohlensäure aus wässerigen Lösungen, als bei vollem Magen.

2. Die Haut des Kaninchens, also wahrscheinlich auch des Menschen, resorbiert auch gasförmiges Kohlendioxyd.

Resorption von Kaliumjodid aus Salben. Einfluß von Fichtennadelextrakt.

Die Kaliumjodidsalbe ist in der Medizin schon lange gebräuchlich. Ueber ihre Resorption ist deshalb auch schon viel geschrieben worden. Eine Zusammenstellung vieler solcher Arbeiten finden wir bei Sinjawsky (17), welcher selber mit Jodkalilösungen (nicht Salben) Versuche machte. Die Ansichten, ob die Haut für Kaliumjodid durchlässig sei, sind sehr verschieden. Einige der angeführten Autoren bestreiten die Aufnahme durch die gesunde Haut überhaupt, andere bejahen sie. Dann tritt auch die Ansicht auf, es werde aus dem Kaliumjodid nur das durch Oxydation entstandene Jod resorbiert. Sinjawsky selbst stellte durch qualitative Prüfung fest, daß nach Aufpinselung von 20%igen Kaliumjodidlösungen eine Jodreaktion im Harn auftritt. Er konstatierte eine Abhängigkeit von der Außentemperatur.

Eine Angabe über Resorption von Kaliumjodid durch die Haut finden wir auch schon bei Filehne (3) und Mahn (4), die bei ihren Versuchen der Löslichkeit in Lanolin darauf kommen, daß Kaliumjodid nur in Lanolin c. aqua, das freies Jod enthält, löslich ist. Sie schließen also, daß in erster Linie freies Jod die Haut passiere. Der gleichen Ansicht ist auch Schwenkenbecher (5). Er wies im Urin von Mäusen, die in Kaliumjodid gebadet wurden, Jod nach.

Fauconnet (18) wies bis 15% der applizierten Menge Kaliumjodid im Urin nach. Die Salbengrundlage war Vaselin. Nahm er dagegen Lanolin, so fand keine Resorption statt. Der Zusatz von Thiosulfat hat nach ihm nur in sehr großen Mengen (10mal mehr als Kalijodid) einen Einfluß auf die Resorption. Dies spricht also dafür, daß Jodid und nicht Jod resorbiert wird.

Die Resorption von Kaliumjodid war wohl deshalb das Thema so vieler Arbeiten, weil ja sonst Elektrolyte allgemein nicht oder nur in unterschwelligen Spuren resorbiert werden (Poulsson). Jodkali muß aber resorbierbar sein, weil die Wirkung

der Salbe ja sonst unerklärlich wäre. Meistens hilft man sich über den Widerspruch durch die Annahme, daß nur freies Jod resorbiert werde, hinüber. Du Mesnil, Canals, Gidon finden keine Resorption durch die normale Haut, dagegen Schoum, Rothmann u. a. (alle zitiert bei Perutz).

In unserer Zeit hat Riniker (19) an der Konzentrationsabnahme von auf die Haut gebrachten Lösungen die Resorption festgestellt. Bühlmann (20) bewies die Resorption durch die Ausscheidung von Jod im Harn nach Anwendung von Kaliumjodidsalben.

Wir kommen hier auch auf die Frage des Einflusses der Salbengrundlage, die im Verlaufe der nachfolgenden Untersuchungen noch kurz erörtert werden wird, zu sprechen.

Diese Frage hat Mühlemann (21) mit der Bürgi'schen Methode geprüft. Er ging so vor, daß er eine bestimmte Menge Salbe in einer Schale auf die Haut brachte, einige Zeit dort ließ, dann den Rest möglichst quantitativ abkratzte und den Verlust von Kaliumjodid, Wasser und Salbengrundlage feststellte. Dabei stellte er für die Resorption von Kaliumjodid, angefangen vom größten Wert, folgende Reihenfolge fest:

1. Kaliumjodid in Lanolin Ph. H. V. gelöst.
2. - - Ol. arach. hydrogenat, verrieben.
3. - - Wasser gelöst und in Ungt. cetyl. emulgiert.
4. - - - - - - Vaselin emulgiert.
5. - - - - - - Ol. arach. hydrogen. emulgiert.
6. - - Vaselin verrieben.
7. - - Ungt. cetyl. anhydric. verrieben.

Von letzterem wurde am wenigsten resorbiert.

Mühlemann machte auch Versuche mit Adeps suillus. Jedoch war die Rückgewinnung wegen des Schmelzens nicht quantitativ auszuführen. Scheinbar war Adeps suillus noch geeigneter als Lanolin.

Da Salben mit Astrafett sich durch große Haltbarkeit auszeichnen und auch nach Mühlemanns Versuchen gut für die Resorption von Kaliumjodid geeignet sind, bediente ich mich bei meinen Versuchen des

Ungt. Kalii iodati Ph. H. V.

Kal. iodat.	10
Natr. hyposulfurosum	0,2
Aqua	30
Ol. arachid. hydrogenatum	60

Der Jodgehalt dieser Salbe ist 7,6%.

Zur Feststellung der Resorption wurde von den oben zitierten Autoren entweder die Ausscheidung im Urin oder die Abnahme von auf die Haut gebrachtem Kaliumjodid in Salben oder Lösungen benutzt. In der vorliegenden Arbeit dagegen wird die Größe der Resorption an der Erhöhung des Jodgehaltes des Blutes gemessen. Dies ist das primäre Zeichen einer Resorption.

Die Blutjodbestimmung wurde nach der Methode von Leipert (22) durchgeführt:

Das Blut wird mit Chromschwefelsäure verascht, wobei das Jod in Jodsäure HJO_3 übergeführt wird.

Nun wird in einer Spezialapparatur das Veraschungsgemisch mit arseniger Säure reduziert und einer Wasserdampfdestillation unter vermindertem Druck unterworfen. Jodsäure wird dabei zu Jod, geht über und wird in einer Vorlage von ganz verdünnter NaOH aufgefangen.

Die Vorlage wird nun durch Eindampfen konzentriert, schwach angesäuert und mit Bromwasser oxydiert. HJ wird wieder zu HJO_3. Der Ueberschuß des Broms wird durch Kochen vertrieben. (Zur Sicherheit setzte ich noch einige Tropfen Phenolwasser zu.)

Dann setzt man Stärkelösung und ein Körnchen Kaliumjodid zu und titriert das freiwerdende Jod mit n/500 Thiosulfat.

Eine genaue Beschreibung des Vorgehens sowie des Apparates findet man im Buch von K. Hinsberg, Medizinisch-chemische Bestimmungsmethoden, 2. Teil, Verlag Springer, Berlin.

Da ich meine Versuche an Kaninchen machte, denen ich Blut aus einer Ohrvene entnahm, konnte ich nicht mit der angegebenen Menge von 10—20 ccm Vollblut arbeiten. Ich mußte mich mit Blutmengen, die zwischen 1,5 und 6 ccm (meist 2—4) schwankten, begnügen. Ich erhielt aber auch so annehmbare Resultate, da es bei erhöhtem Jodgehalt natürlich entsprechend weniger Blut braucht. Es ist aber in Betracht zu ziehen, daß eventuelle Fehlerquellen (Jodgehalt der Luft, des Wassers und der Reagentien) viel mehr Gewicht erhalten, je kleiner die verwendete Blutmenge ist.

Bei der Entnahme aus der Ohrvene des Kaninchens floß das Blut tropfenweise aus. Ich fing es in einem tarierten Wägegläschen auf und stellte das Gewicht der zu verarbeitenden Menge fest. Wegen des sofortigen Gerinnens war eine Messung des Volumens nicht möglich. Die angeführten Zahlen beziehen sich also immer auf das Gewicht des Blutes.

Versuchsanordnung:

Ein Kaninchen wurde gewogen und dann wurde ihm aus einer Ohrvene Blut entnommen, und darin der Jodgehalt bestimmt. Dann wurde es auf ein Präparierbrett aufgebunden. Die Bauchhaare wurden auf einer Fläche von 80—120 cm^2 weggeschoren und eine bestimmte Menge Salbe eventuell mit Zusätzen aufgestrichen. Die Salbe wurde mit einem Wachspapier bedeckt. Nach einer Stunde wurde das Wachspapier entfernt, die Ueberreste der Salbe weggekratzt und mit Watte weggeputzt und die Haut mit Aether, Alkohol und Wasser möglichst gereinigt. Darauf wurde sofort zum zweiten Mal Blut entnommen und

wieder der Jodgehalt bestimmt. Zur Kontrolle der Ausscheidung wurde eventuell später noch ein drittes und viertes Mal das Blutjod bestimmt.

Bei den ersten Versuchen erhielt ich vor der Kaliumjodid-Behandlung normale Blutjodwerte. Später waren sie immer zu hoch. Ich erklärte mir das dadurch, daß die behandelten Tiere im Kaninchenstall Kaliumjodid durch den Urin ausschieden. Dieses oxydierte sich zu Jod, welches alle Kaninchen einatmeten. Dadurch erhielten sie einen erhöhten Blutjodspiegel. Da bei meinen Versuchen hauptsächlich das Verhältnis der Blutjodzahlen vor und nachher eine Rolle spielt, macht dieser Uebelstand nicht viel aus.

A. Einfluß von Fichtennadelextrakt auf die Resorption von Kaliumjodid.

Schon bei den Versuchen von Bühlmann (20) zeigte sich, daß Fichtennadelextrakt (abgekürzt als F. E. bezeichnet) einen fördernden Einfluß auf die Resorption von Kaliumjodid aus Salben und Lösungen hat. Er untersuchte die Ausscheidung im Urin und machte seine Versuche an Menschen.

Ich arbeitete nach der oben beschriebenen Methode an Kaninchen. Um die Wirkung des F. E. zu prüfen, wurde 1 ccm desselben auf die Haut verstrichen und dann nachher 5,0 Ungt. Kal. jodati gleichmäßig verteilt. Bei Versuchen ohne F. E. wurde dasselbe Quantum Salbe allein angewandt.

Das Fichtennadelextrakt wurde dann auch 1:5 mit Wasser verdünnt und dann 1 ccm genommen.

Der Jodgehalt des Blutes wird in γ % berechnet, d. h. Anzahl γ Jod in 100,0 Blut.

So erhielt ich folgende Ergebnisse:

Kaninchen Nr.	Gewicht	Blutjodzahl	
		vorher	nach 1 Std.
Salbe allein			
1	3,8 kg	0 γ %	730 γ %
2	4,7 kg	360 γ %	1230 γ %
5	4,0 kg	220 γ %	1010 γ %
10	4,5 kg	150 γ %	860 γ %
Salbe mit F. E.			
3	3,4 kg	200 γ %	7890 γ %
4	3,4 kg	185 γ %	10900 γ %
9	3,7 kg	120 γ %	5100 γ %
Salbe mit F. E. 1:5 verdünnt.			
1	3,8 kg	185 γ %	1210 γ %
6	3,9 kg	120 γ %	610 γ %*)

*) Letzteres Resultat scheint unwahrscheinlich und dürfte auf undurchlässige Haut durch andere Verwendung des Tieres zurückzuführen sein.

B. Versuche über das allmähliche Absinken des Blutjods nach der Behandlung mit Kaliumjodid.

H. Anten (23) arbeitete über die Ausscheidung des Kaliumjodids im Harn und stellte fest, daß sie bei oraler Zufuhr schon wenige Minuten nach der Einnahme beginnt. Die Dauer der Ausscheidung wird verschieden bemessen (von 24 Stunden bis 11 Tagen). Anten sagt, nach ca. 40 Stunden sei 65—80% ausgeschieden. Im ganzen wird im Harn 70—90% gefunden, meistens hohe Werte. Das Maximum der Ausscheidung sei zwei Stunden nach der Einnahme.

Für meine Versuche über die Jodspeicherung wurden dieselben Kaninchen wie bei den vorhergehenden Versuchen verwendet. In gewissen Zeitabständen nach der Salbenbehandlung wurde ihre Blutjodzahl noch mehrmals bestimmt.

Es zeigte sich, daß dieselbe direkt nach der Behandlung am höchsten ist und nachher langsam fällt. Die Zeit, bis wieder eine normale Blutjodzahl da ist, ist bei den einzelnen Kaninchen verschieden. Bei Kaninchen Nr. 5 ging es z. B. nur 24 Stunden, meistens dagegen mehrere Tage.

Nachfolgend die Resultate:

Kaninchen Nr. 2, 4,7 kg	Blutjodgehalt
Vor der Behandlung	360 γ %
Nach der Behandlung (1 Stunde)	1230 - %
Nach 18 Stunden	620 - %
Nach 4 Tagen	260 - %

Kaninchen Nr. 3, 3,4 kg	Blutjodgehalt
Vor der Behandlung	200 γ %
Nach der Behandlung (1 Stunde)	7890 - %
Nach 6 Stunden	3950 - %
Nach 30 Stunden	1540 - %
Nach 8 Tagen	350 - %

Kaninchen Nr. 4, 3,4 kg	Blutjodgehalt
Vor der Behandlung	185 γ %
Nach der Behandlung (1 Stunde)	10900 - %
Nach 3 Stunden	7900 - %
Nach 24 Stunden	2680 - %
Nach 4 Tagen	810 - %
Nach 7 Tagen	250 - %

Kaninchen Nr. 5, 4,0 kg	Blutjodgehalt
Vor der Behandlung	220 γ %
Nach der Behandlung	1010 - %
Nach 1 Stunde	740 - %
Nach 24 Stunden	253 - %

C. Versuche mit Kaliumjodatsalbe.

Die Vergrößerung der Resorption von Kaliumjodid durch das F. E. könnte eventuell darauf zurückzuführen sein, daß Kaliumjodid oxydiert wird und nur das gebildete Jod durch die Haut resorbiert wird.

Um dies festzustellen, wurde eine KJO_3-Salbe eingestrichen, die sich aber wegen Lösungsverhältnissen nur 3⅓%ig herstellen ließ. Das Verhältnis des Jodgehaltes ist 2% : 7,6% Jod, also enthält die KJO_3-Salbe 3,8 mal weniger Jod. Dafür verwendete ich 7,5 g Salbe. Die Resultate lassen sich also kaum vergleichen in bezug auf die Größe der Resorption, dafür aber die Resorption mit und ohne F. E.

Kaninchen Nr.	Gewicht	Blutjodzahl	
		vorher	nach 1 Std.
Salbe allein			
2	4,7 kg	93 γ %	365 γ %
1	3,8 kg	120 γ %	410 γ %
Salbe mit F. E.			
3	3,4 kg	180 γ %	865 γ %
5	4,0 kg	135 γ %	935 γ %

Man sieht auch hier eine Vergrößerung der Resorption bei Anwendung von F. E.

Da unter diesen Versuchsbedingungen unmöglich Jod aus KJO_3 frei werden kann, ist diese Vergrößerung nur durch eine Wirkung des F. E. auf die Haut und nicht auf die resorbierte Substanz zu erklären. Dasselbe gilt auch für die Kaliumjodidsalbe.

Die Oxydation des Kaliumjodids war auch schon deshalb wenig wahrscheinlich, weil das F. E. alkalisch reagiert.

D. Versuche, den wirksamen Bestandteil aus dem Fichtennadelextrakt zu finden.

Das verwendete F. E. enthält neben anderen Bestandteilen Tannate und Bornylacetat. Ich machte daher einesteils Jodresorptionsversuche unter Zugabe von 1 ccm ca 10% Na. Tannatlösung, die durch Zugabe von Tannin fast neutralisiert wurde und außerdem unter Zusatz von 0,5 ccm Bornylacetat.

1. Behandlung mit 1,1 ccm Na. Tannatlösung und 3,0 Ungt. Kalii jodati:

Kaninchen Nr.	Gewicht	Blutjodzahl	
		vorher	nachher
10	2,6 kg	170 γ %	170 γ %
11	4,5 kg	110 γ %	130 γ %

2. Behandlung mit 0,5 ccm Bornylacetat und 3,0 Ungt. Kal. jodat.

12	3,7 kg	220 γ %	2070 γ %
10	2,6 kg	180 γ %	1820 γ %
11	4,5 kg	110 γ %	2240 γ %

3. Behandlung mit 3,0 Ungt. Kal. jodat. allein.

11	4,5 kg	150 γ %	680 γ %
12	3,7 kg	170 γ %	560 γ %

Das Tannat bewirkt also an sich eine Verminderung (bzw. Aufhebung) der Resorption.

Das Bornylacetat erhöht dagegen die Resorption, wenn auch nicht in dem Maße wie das F. E.

Zu beachten ist, daß ich diesmal nur 3,0 Kaliumjodidsalbe verwendete.

Es ist mir also nicht gelungen, einwandfrei festzustellen, worauf die resorptionsfördernde Wirkung von F. E. beruht. Jedenfalls ist das Bornylacetat daran beteiligt.

E. Einige Versuche über den Einfluß der Salbengrundlage auf die Größe der Resorption.

Hier handelte es sich in der Hauptsache darum, zu sehen, wie das Verhältnis der Ungt. Kalii jodati der Ph. H. V zu derjenigen der Ph. H. IV mit Bezug auf die Resorption sei. Die Salbe der Ph. H. IV war mit Adeps suill. hergestellt.

Dann untersuchte ich auch die Resorption einer Ungt. Kal. jodati ohne Wasser, also einer bloßen Anreibung von Kalijodid mit Ol. Arachid. hydrogenat.

Nach der eingangs erwähnten Arbeit von Mühlemann (21) sollte die Resorption so größer sein.

Hier folgen nun die Ergebnisse:

Angewandte Salbe	Menge	Gewicht des Kaninchens	Blutjodzahl	
			vorher	nach 1 Std.
Wasserfr. Anreibung v. 10% KJ in Astrafett				
1	5,0	3,7 kg	180 γ %	540 γ %
2	5,0	3,4 kg	160 γ %	490 γ %
Dieselbe Salbe und F. E.	5,0 + 1 cm³	4,5 kg	210 γ %	1020 γ %
Zum Vergleich:				
Ungt. KJ Ph. H. V. 1	5,0	4,0 kg	220 γ %	1010 γ %
2	5,0	4,5 kg	150 γ %	860 γ %
Dieselbe Salbe und F. E.	5,0 + 1 ccm	3,4 kg	185 γ %	10900 γ %
Ungt. KJ Ph. H. IV. 1	5,0	3,7 kg	170 γ %	650 γ %
2	5,0	4,2 kg	120 γ %	540 γ %
Dieselbe Salbe und F. E.	5,0 + 1 ccm	4,5 kg	80 γ %	2150 γ %

Die Salbe der Ph. H. V mit Ol. Arachid. hydrogenat. wird also, wie man sieht, am besten resorbiert, am schlechtesten die wasserfreie Salbe.

Aus allen den vorhergehenden Versuchen geht klar hervor, daß Kaliumjodid tatsächlich resorbiert wird, und zwar sehr schnell und in größeren Mengen. Bei einigen der erwähnten Teilprobleme ließen sich die Versuche noch bedeutend erweitern, z. B. die über den Einfluß der Salbengrundlage oder über das resorptionsfördernde Prinzip im F. E.

Zusammenfassung.

1. Fichtennadelextrakt bewirkt eine 8—10fache Vergrößerung der Resorption von Ungt. Kalii iodati Ph. H. V.

2. Der Jodgehalt des Blutes ist am größten direkt nach Aufhören der Salbeneinwirkung und fällt dann langsam.

3. Auch durch Einwirkung von Kaliumjodatsalbe wird der Jodgehalt des Blutes erhöht. Dies zeigt, daß nicht nur Jod, durch Oxydation von Kaliumjodid entstehend, resorbiert wird.

4. Bornylacetat erhöht die Resorption ebenfalls beträchtlich, Tannatlösung hebt sie auf.

Beide Stoffe sind in dem verwendeten Fichtennadelextrakt vorhanden.

5. Im Vergleiche von Ungt. Kalii iodati Ph. H. V mit derselben Salbe ohne Wasser und mit Ungt. Kalii iodati Ph. H. IV zeigt sich, daß die ersterwähnte Salbe am besten resorbiert wird, am schlechtesten die Salbe ohne Wasser.

Versuche über die Resorption von Insulin durch die Haut unter Zuhilfenahme von Fichtennadelextrakt.

Da es trotz vieler Bemühungen bis jetzt nicht gelungen ist, ein oral wirksames Insulinpräparat herzustellen, versuchte man schon seit einiger Zeit Insulin durch die Haut zur Wirkung zu bringen.

Hermann und Kassowitz (24) halten, gestützt auf eingehende Versuche, Insulin nach kutaner Anwendung für wirksam. Sie weisen darauf hin, daß nur lebende Haut Insulin durchläßt, und zwar nur unter gewissen Bedingungen. Die Haut von fleischfressenden und pflanzenfressenden Tieren reagiere verschieden. Ihren Versuchen nach, sind diese Unterschiede auf ungleiches P_H zurückzuführen. Die Hautoberfläche der Pflanzenfresser reagiere neutral oder alkalisch, die der Fleischfresser sauer. Die Säure verhindere eine gute Resorption des Insulins. Hypoglykämische Symptome treten daher nicht auf. Die Haut der Fleischfresser müsse also zur Erzielung einer klaren Insulinwirkung auf den Blutzucker zunächst alkalisch gemacht oder mindestens neutralisiert werden.

Ferner glaubten die genannten Autoren zeigen zu können, daß das in der Haut enthaltene Cholesterin einen hemmenden Einfluß auf die Resorption des Insulins habe. Die Haut müsse also zuerst immer entfettet werden, was mit einem Gemisch von Aether-Petroläther geschah. Das Cholesterin der Haut könne aber trotzdem auch bei unentfetteter Haut nicht ganz verhindern, daß Insulin resorbiert wird. Dies glaubten sie durch die Senkung des Blutzuckers bei Hunden mit nicht entfetteter Haut bewiesen zu haben.

Bruger und Flexner (25) dagegen bestreiten überhaupt, daß Insulin durch die intakte Haut hindurchgehe.

Meine hier folgenden Versuche wurden alle an unentfetteter Haut gemacht, in der Annahme, die Resorption durch die entfettete Haut sei durch die Versuche von Hermann und Kassowitz bewiesen. Da ihre Versuche eine bessere Wirkung bei der von Natur aus alkalischen Haut von Kaninchen erwarten ließen, wählte ich diese als Versuchstiere. Meine Versuche machte ich mit Hilfe des mir von der Firma Boehringer, Basel, zur Verfügung gestellten Fichtennadelextraktes. Bei in Estland ausgeführten Versuchen soll es gelungen sein, mit diesem Fichtennadelextrakt (F. E.) Insulin durch die normale Haut zur Wirkung zu bringen.

In einigen Fällen brachte ich das Insulin als solches auf die Haut, in anderen mit F. E.

Versuchsanordnung:

Ein Kaninchen wurde 24 Stunden ohne Nahrung gehalten, damit ein konstanter Blutzuckerspiegel erreicht war. Es wurde nun gewogen, auf ein Präparierbrett aufgebunden und die Bauchhaare auf einer Fläche von ca. 80—100 cm^2 geschoren. Dort strich ich dann zuerst 1 ccm Fichtennadelextrakt und darauf eine frisch zubereitete Salbe mit 20 oder 40 E Insulin ein. Die Salbe stellte ich durch Emulgieren einer käuflichen Insulinlösung in ein wenig Astrafett her. Abwechselnd kamen Versuche ohne F. E.

Schon vor dem Aufbinden, dann vor dem Aufstreichen der Salbe und nachher fortlaufend alle 30 Minuten wurden Blutproben entnommen, und zwar wieder aus einer Ohrvene. Im Blut wurde dann nach der Methode von Hagedorn und Jensen der Zuckergehalt bestimmt.

Bei den ersten Versuchsreihen fiel mir auf, daß die Blutzuckerwerte nach Aufstreichen der Salbe stiegen und zwar stark. Dies war also das Gegenteil einer Insulinwirkung. Da dies unmöglich durch die Salbe bewirkt worden sein konnte, machte ich einige Versuche ohne Insulin, einfach mit Aufbinden des Kaninchens und Scheren der Haare. Dabei stieg der Blutzucker genau wie vorher. Ich kann mir das nicht anders erklären als dadurch, daß die Angst beim Aufbinden eine Erhöhung des Blutzuckers mit sich bringt. Dies gehört aber eigentlich nicht hierher, und ich habe es nur erwähnt, weil es die bis jetzt gebrauchte Methode der Salbenanwendung unter Aufbinden des Kaninchens verunmöglichte.

Deshalb ging ich jetzt so vor, daß ich die Versuchstiere am Rücken schor, dort die Salbe einstrich, dann mit einem Wachspapier bedeckte und dann noch einen Bindenverband anbrachte. Das Tier kam nun in einen Holzkasten mit Schiebedeckel, der so eng war, daß es sich darin nicht wenden und auch nicht

mit dem Maul den Verband erreichen konnte. Insulin wird ja ohnehin bei peroraler Verarbeitung nicht resorbiert.

Wie vorher, nahm ich wieder alle 30 Minuten, später alle 60 Minuten eine doppelte Blutprobe und bestimmte den Blutzucker. Ich machte Versuche mit Insulin flüssig und mit Insulinsalbe, beides mit und ohne vorherige Fichtennadelextraktbehandlung.

In jedem Falle blieb der Blutzucker auf gleicher Höhe. Es konnte also keine Resorption konstatiert werden.

Hier zwei Beispiele der erhaltenen Werte:

Kaninchen Nr. 1, 24 Stunden gehungert

Gewicht 3,9 Kg.	Blutzucker der 2 Proben in mgr. %. A	B
1. Vor dem Versuch Aufstreichen von 1 ccm F.E. und 20 E. Insulin in Salbe	94	97
2. Direkt nachher	95	94
3. Nach 1 Stunde	93	94
4. Nach 2 Stunden	95	95
5. Nach 4 Stunden	94	93
6. Nach 5 Stunden	96	94

Kaninchen Nr. 2, 24 Stunden gehungert

Gewicht 2,6 kg.	Blutzucker der 2 Proben in mgr. %. A	B
1. Vor dem Versuch Aufstreichen von 40 E. Insulin in Salbe	73	74
2. Direkt nachher	73	75
3. Nach 1 Stunde	74	74
4. Nach 2 Stunden	76	74
5. Nach 4½ Stunden	75	73
6. Nach 5½ Stunden	74	77

Bei beiden ist der Blutzucker innerhalb der Fehlergrenzen konstant. Das gleiche Bild zeigten die anderen Versuchsergebnisse.

Zusammenfassung.

Insulin wird weder allein noch mit Hilfe von Fichtennadelextrakt durch die normale Haut resorbiert.

Die Resorption von Vitamin B_1 (Aneurin) durch die Haut.

Kasahara und Mitarbeiter (26) berichten über Versuche, Aneurin durch die Haut wirken zu lassen. Tauben wurden mit poliertem Reis gefüttert, bis sie die bekannten Symptome des Vitamin-B_1-Mangels, Krämpfe, Rückneigungen des Kopfes etc. zeigten.

Hierauf wurden ihnen an der Brust Federn ausgerupft und dort eine Aneurinsalbe eingerieben. Die Tauben wurden in einigen Tagen gesund.

Da es möglich erschien, daß sie sich das nötige Vitamin durch Picken an der mit Salbe bestrichenen Stelle einverleibt hatten, beschloß ich auf Anregung von Gordonoff die Frage zu prüfen. Anstatt des physiologischen sollte der chemische Nachweis entscheiden, ob Vitamin B_1 tatsächlich durch die Haut aufgenommen wird.

Als Beweis sollte mir eine erhöhte Ausscheidung desselben im Urin nach Anwendung auf die Haut von Kaninchen dienen. Karrer (27) machte Versuche über die Vitamin-B_1-Ausscheidung im menschlichen Harn bei normalen Verhältnissen und bei oraler Belastung mit großen Dosen. Er stellte fest, daß in letzterem Falle nur ca. 3—5% des eingenommenen Vitamins im Harn wieder gefunden wird. Er arbeitete mit Gaben von 3×20 bis 3×40 mgr. pro Tag. Also bedeuten auch diese 3—4% eine solche Erhöhung der Vitaminausscheidung, daß es in meinem Falle sicher auch als Beweis des Durchgehens durch die Haut genügt. Die normale Ausscheidung des Menschen beträgt ca. 100 γ pro Tag, beim Kaninchen, wie aus meinen Versuchen hervorgeht, 8—16 γ.

Als Methode für den Nachweis des Aneurins wählte ich die von Karrer und Kubli (28) empfohlene Thiochrom-Methode. Sie beruht darauf, daß Aneurin bei vorsichtiger Oxydation in Thiochrom übergeht. Dieses hat die Eigenschaft, im ultravioletten Lichte zu fluoreszieren. Schon Mengen von 1 γ und weniger zeigen sich deutlich durch diese Fluoreszenz. Durch Vergleiche mit einer Lösung von bekanntem Aneuringehalt und Verdünnen auf gleich starke Fluoreszenz kann man auch ungefähr quantitative Bestimmungen machen. Genauere Werte erhält man bei Benutzung eines Photometers nach Otto und Rühmekorb (29). Da mir kein solches zur Verfügung stand, verwendete ich ein gewöhnliches Kolorimeter. Ich ließ das Licht nicht von unten einfallen, sondern hob den Deckel ab und stellte das Kolorimeter so, daß das UV.-Licht von der Seite die im gleichen Abstand von der Lichtquelle stehenden Vergleichszylinder traf. Durch Versuche mit bekannten Thiochrommengen stellte ich fest, daß bei einer Vergleichslösung von 2 γ in 10 ccm Lösung noch bis viermal stärkere Lösungen mit einem Fehler von ca. —5% bestimmt werden können. Eine Lösung von ca. 2 γ Aneurin benutzte ich bei allen Versuchen als Test.

Die Vitamin-B_1-Bestimmung nach Karrer und Kubli wurde ein wenig modifiziert und folgendermaßen ausgeführt:

1. Thiochromlösung.

20 ccm Harn und 0,5 ccm Eisessig werden mit 0,5 gr. Frankonit eine Stunde geschüttelt. Man zentrifugiert, gießt ab, rührt in 3 ccm destilliertem Wasser auf und zentrifugiert wieder. Man gießt ab und spült den Rückstand mit 3 ccm 15%iger NaOH in einen graduierten Meßzylinder von 25 ccm mit Glasstopfen. Man gibt 1 ccm 1% Kal. Ferricyanid zu und schüttelt 2 Minuten gelinde. Hierauf gibt man 12 ccm Isobutylakohol zu und schüttelt 2 Minuten stark. Man läßt stehen bis zur Schichtentrennung. Die letzten Reste der wässerigen Flüssigkeit kann man durch Zentrifugieren aus dem Alkohol entfernen.

Nun pipettiert man 10 ccm Alkohollösung heraus und hat darin $^5/_6$ des aus 20 ccm Harn entstehenden Thiochroms.

2. Leerversuch.

20 ccm desselben Harns werden zu gleicher Zeit genau gleich ausgeschüttelt und weiter behandelt. Der einzige Unterschied ist, daß man keine Kal. Ferricyanidlösung zugibt. Das darin enthaltene Aneurin wird also auch nicht zu Thiochrom oxydiert. Diese Isobutylalkohollösung enthält nur die Stoffe, die die Eigenfluoreszenz des Harns ausmachen. Man braucht sie, um dieselbe zu korrigieren.

3. Vergleichslösung.

0,2 ccm einer Lösung, die in 1 ccm 10 γ Aneurin enthält, wird in einem gleichen Meßcylinder wie oben mit 3 ccm 15%iger NaOH und 0,1 ccm 1%igem Ferricyanid oxydiert, indem man 2 Minuten sanft schüttelt. Dann wird ebenfalls wie oben mit 12 ccm Isobutylalkohol durch 2minutiges starkes Schütteln ausgezogen. Nach Trennung der Schichten pipettiert man 10 ccm ab und hat nun die Vergleichslösung aus 2 γ Aneurin. Eigentlich enthält sie ja nur $^5/_6$ davon. Da aber alle drei Lösungen gleich hergestellt wurden, nämlich durch Ausschütteln mit 12 ccm Isobutanol und Abpipettieren von 10 ccm, haben alle $^1/_6$ verloren. Wenn man die Vergleichslösung als 2 γ annimmt, korrigiert sich das.

Von jedem zu untersuchenden Harn muß eine Thiochromlösung und ein Leerversuch hergestellt werden. Vergleichslösung braucht es nur eine. Alle Lösungen sind schlecht haltbar. Nach Aufbewahrung von wenigen Stunden sinken die Werte. Auch die Lösung des Leerversuches verändert die Stärke ihrer Fluoreszenz. Darum müssen alle Lösungen jeden Tag frisch hergestellt werden.

Die quantitative Bestimmung mit dem Kolorimeter gestaltet sich nun folgendermaßen:

Man füllt in einen Tubus die Vergleichslösung ein und in den anderen nacheinander Leerversuch 1, Thiochromlösung 1, Leerversuch 2 und Thiochromlösung 2. Man drückt die gefun-

denen Lichtwerte in γ Aneurin aus und zieht das Ergebnis des Leerversuches von demjenigen der entsprechenden Thiochromlösung ab. Ist eine Lösung mehr als viermal stärker als die Vergleichslösung, so verdünnt man sie mit Isobutanol bis sie innerhalb der gesetzten Grenzen fällt.

Die Tierversuche setzte ich so an, daß ich zwei Kaninchen in zwei Käfigen genau gleich fütterte, nämlich mit Karotten, einem Körnergemisch und Wasser. Von beiden Kaninchen wurde jeden Tag der Harn aufgefangen, die Menge bestimmt und dann in 20 ccm das Aneurin nach obiger Methode bestimmt. Am zweiten Tag wurde dem einen Kaninchen auf eine geschorene Stelle am Rücken 2 gr Salbe, enthaltend 10 mgr Aneurin gestrichen. (Die Salbe enthielt 0,5% Aneurin in Ol. Arachid. hydrogenat.) Die mit Salbe bestrichene Stelle wurde mit einem Stück Gummituch bedeckt, dieses mit Binden festgebunden und ringsum mit Heftpflaster angeklebt, so daß das Kaninchen die Salbe nicht fressen konnte. Die Aneurinausscheidung wurde von nun an noch ca. drei Tage verfolgt.

Nun erhielten die Kaninchen über das Wochenende 2—3 Tage normales Futter, Abfälle, Gras etc. Am Montag kamen sie wieder in den Käfig und wurden wie oben mit Karotten, Körnern und Wasser gefüttert. Diesmal wurde nun das andere Kaninchen am Dienstag mit Aneurinsalbe behandelt. Wieder, wie in der vorhergehenden Woche, wurde jeden Tag die Ausscheidung untersucht. Ueber Wochenende wurden die Tiere wieder normal gefüttert und am Montag begann wieder ein neuer Versuch mit vertauschten Rollen.

Als Versuchstiere hatte ich folgende zwei Kaninchen:

1. Kaninchen weiß (w.) 3,7 kg.
2. Kaninchen braun (Br.) 4,3 kg.

Sie wurden jeweils in mit I und II bezeichnete Käfige gebracht. Das Tier II erhielt jeweils am zweiten Tag 10 mgr Aneurin auf die Haut gestrichen. Tier I diente als Kontrolle.

Hier folgen die Resultate:

Ausscheidung von Vitamin B_1 im Harn.

	Versuchstier	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	
1. Woche	I w.	7 γ	12 γ	9 γ	12 γ	Kontr.
	II Br.	18 γ	**52** γ	**115** γ	15 γ	Vers.
2. Woche	I Br.	16 γ	9 γ	10 γ	10 γ	Kontr.
	II w.	15 γ	**130** γ	**110** γ	16 γ	Vers.
3. Woche	I w.	8 γ	15 γ	10 γ	10 γ	Kontr.
	II Br.	9 γ	**60** γ	**45** γ	12 γ	Vers.
4. Woche	I Br.	15 γ	7 γ	8 γ	14 γ	Kontr.
	II w.	11 γ	**140** γ	**45** γ	11 γ	Vers.

Man sieht, daß Vitamin B_1 tatsächlich durch die Haut resorbiert wird. Die Ausscheidung erfolgt am gleichen Tag wie die Applikation und auch noch am folgenden Tag. Da die Salbe nicht mehr entfernt wurde, ist auch denkbar, daß die Resorption so langsam geht.

Zusammenfassung.

1. Die normale Ausscheidung des Kaninchens von Vitamin B_1 durch den Urin beträgt durchschnittlich 8 bis 15 γ pro Tag.

2. Bei Anwendung von vitamin-B_1-haltiger Salbe auf die Haut wird die Ausscheidung durch den Urin bis auf das zehnfache erhöht. Die Resorption durch die Haut ist damit bewiesen.

3. Es konnten im Urin 1—2,5% des angewandten Vitamins wiedergefunden werden.

Herrn Prof. Dr. Bürgi möchte ich an dieser Stelle noch bestens für die Zuweisung der Arbeit sowie für seine Ratschläge danken. Mein Dank gilt auch den Herren P. D. Dr. Gordonoff und Dr. Beck, Assistenten des pharmakologischen Institutes, für ihre wertvolle Mithilfe bei der Durchführung der Versuche.

Literaturverzeichnis.

1. Overton, Vierteljahresschrift der naturforschenden Gesellschaft Zürich, **40** (1895), 159, Festschrift (1896), **44** (1899).
2. Derselbe, Pflügers Archiv **92** (1902), 115.
3. Filehne, Berliner klinische Wochenschrift (1898), 45.
4. Mahn, Dissertation, Breslau 1897.
5. Schwenkenbecher, Archiv für Physiologie (1904), 121.
6. Moncorps, Archiv exp. Pathologie **141** (1929), 50, 67, 87; **152** (1930), 57; **155** (1930), 51; **163** (1931), 377; **185** (1937), 572.
7. Perutz, Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, V/1, S. 137 ff.
8. G. Schmid, Dissertation, Bern 1937.
9. Lehmann, Dissertation, Bern 1937.
10. Winternitz, Archiv klinischer Medizin **72**, 258.
11. Liejstrand & Magnus, Pflügers Archiv **193**, Ref. bei Salzmann.
12. Groedel & Wächter, Zentr. für Balneologie (1929), Ref. bei Salzmann.
13. Groedel, Medizinische klinische Wochenschrift (1928), 8 Ref. bei Salzmann.
14. Salzmann, Münchner medizinische Wochenschrift (1930), 679.
15. Hediger, Klinische Wochenschrift **33** (1928) 1555.
16. Bürgi, Schweizerische medizinische Wochenschrift **23** (1935), 516.
17. v. Sinjawsky, Dissertation, Berlin 1897.
18. Fauconnet, Archiv klinischer Medizin **86** (1906), 317.
19. Riniker, Dissertation, Bern 1938.
20. Bühlmann, Dissertation, Bern 1940.
21. Mühlemann, Pharm. acta Helv. (1940), Heft 1 und 2.
22. Leipert, Biochemische Zeitschrift **26** (1933), 436; **293** (1937), 103.
23. Anten, Archiv exp. Pathologie **48** (1902), 331.
24. Hermann & Kassowitz, Archiv exp. Pathologie **179** (1935), 524 u. 529.
25. Brugner & Flexner, proc. soc. f. exp. Biol. a. Med. **35** (1936) 429.
26. Kasahara, Klinische Wochenschrift (1938), 939.

27. Karrer, Helv. chim. act. **20** (1937), 1147.
28. Karrer & Kubli, Helv. chim. act. **20** (1937), 369.
29. Otto & Rühmekorb: Klinische Wochenschrift **17** (1938), 1246.

I. Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten Bd. V, 1, Pharmakologie der Haut, Verlag Springer, Berlin.

II. Salben und Salbengrundlagen, v. Czetsch-Lindenwald und Schmidt-La Baume, Verlag Springer, Berlin 1939.

III. Medizinisch-chemische Bestimmungsmethoden, 2. Teil, K. Hinsberg, Verlag Springer, Berlin.